

УДК 579.22

М. А. Петерс^а, Н. Г. Музыка^а, А. В. Тюленев^а, О. Н. Октябрьский^{а,б}, Г. В. Смирнова^а

^а Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

^б Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ГЕНОВ ПРИ РОСТЕ *ESCHERICHIA COLI* НА РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКАХ УГЛЕРОДА И ЭНЕРГИИ

Стрессы бактерий нередко сопровождаются усилением продукции активных форм кислорода (АФК). Вследствие этого уровень экспрессии антиоксидантных генов может играть важную роль в адаптации бактерий к изменяющимся условиям среды. В данной работе, используя аэробно растущие культуры *E. coli*, мы изучили влияние источников углерода и энергии на экспрессию антиоксидантных генов *katG*, *katE* и *sodA*, кодирующих, соответственно, каталазы HPI, HPII и Mn-супероксиддисмутазу. При росте на сукцинате, малате, α -кетоглутарате и ацетате как единственных источниках углерода и энергии, экспрессия гена *katG* была, соответственно, в 1.5, 1.6, 1.7 и 2.3 раза выше, чем при росте на глюкозе. Экспрессия гена *katE* у бактерий, растущих на сукцинате, малате, α -кетоглутарате или ацетате, была выше, чем у растущих на глюкозе, в 1.8, 1.95, 1.5 и 2.1 раза, соответственно. При росте на глюкозе, сукцинате и малате наблюдалось снижение экспрессии гена *sodA* в течение периодики. На ацетате экспрессия *sodA* оставалась постоянной и превышала уровень, характерный для глюкозы в 1.2–1.8 раза. Скорость продукции супероксида и накопление H_2O_2 в среде снижались в условиях, способствующих повышенной экспрессии антиоксидантных генов.

Ключевые слова: супероксид; H_2O_2 ; каталазы HPI и HPII; Mn-супероксиддисмутазы; бактерии.

M. A. Peters^а, N. G. Muzyka^а, A. V. Tyulenev^а, O. N. Oktyabrsky^{а,б}, G. V. Smirnova^а

^а Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

^б Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russian Federation

CHANGING OF EXPRESSION OF ANTIOXIDANT GENES IN *ESCHERICHIA COLI* DURING GROWTH ON VARIOUS SOURCES OF CARBON AND ENERGY

In bacteria various stresses are accompanied by an increased production of reactive oxygen species (ROS). Consequently, the level of expression of antioxidant genes may play an important role in bacterial adaptation to changing environments. In this paper, using aerobically growing cultures of *Escherichia coli*, we have evaluated the effect of carbon and energy sources on expression of antioxidant genes *katG*, *katE* and *sodA*, coding, respectively, catalases HPI, HPII and Mn-superoxide dismutase. When grown on succinate, malate, α -ketoglutarate or acetate as a sole source of carbon and energy, *katG* gene expression was, respectively, 1.5, 1.6, 1.7 and 2.3 times higher than during growth on glucose. Expression of the *katE* gene during growth on succinate, malate, α -ketoglutarate or acetate was higher than that during growth on glucose, in 1.8, 1.95, 1.5 and 2.1 times, respectively. Expression of the *sodA* gene decreased during the periodic growth on glucose, succinate and malate. Under growth on acetate, *sodA* expression maintained constant and 1.2 – 1.8 times exceeded the level on glucose. The rate of superoxide production and the level of H_2O_2 in the medium decreased under conditions, which promoted enhanced expression of antioxidant genes.

Key words: superoxide; H_2O_2 ; catalases HPI and HPII, Mn-superoxide dismutase; bacteria.

Введение

Активные формы кислорода (супероксидный анион, перекись водорода, гидроксильный радикал и др.) постоянно образуются при нормальном аэробном метаболизме, и с этой точки зрения являются неизбежными побочными продуктами жизни в присутствии

кислорода. Образование супероксида или H_2O_2 происходит в результате случайного переноса одного или двух последовательных электронов с редокс-активных сайтов флавиновых ферментов на кислород [Imlay, Fridovich, 1991; Gonzalez-Flecha, Demple, 1995; Messner, Imlay, 1999].

У *E. coli* скорость продукции эндогенного су-

пероксида в цитоплазме составляет порядка 5 мкМ/сек, а эндогенной H_2O_2 – около 15 мкМ/сек [Imlay, 2008]. Скорость продукции активных форм кислорода (АФК) не является постоянной, определяется количеством редокс-активных сайтов и зависит от условий культивирования. Резкое торможение дыхания или повышение уровня $\Delta\mu H^+$ может продлевать промежуток времени, в течение которого компоненты электрон-транспортной цепи находятся в восстановленном состоянии, тем самым повышая вероятность неферментативного восстановления кислорода с образованием супероксида и H_2O_2 [Skulachev, 1998]. АФК способны повреждать все виды макромолекул в клетке, включая ДНК, липиды и белки, и нарушать метаболизм клетки путем инактивации ферментов, содержащих железо [Imlay, 2008; Anjem, Imlay, 2012; Gu, Imlay, 2013].

Для борьбы с этими окислительными повреждениями клетки *E. coli* используют ряд ферментативных защитных систем, включая супероксиддисмутазы (MnSOD, FeSOD и CuZnSOD), каталазы (HPI и HPII) и алкилгидропероксидредуктазу (AhpFC) [Imlay, 2008]. Активность антиоксидантных систем регулируется таким образом, чтобы снизить концентрацию АФК до безопасного уровня. Различные стрессы у бактерий часто сопровождаются торможением дыхания, что может приводить к повышению скорости образования АФК. При этом степень индукции антиоксидантных ферментов может играть важную роль для процесса адаптации к новым условиям окружающей среды.

Целью настоящей работы было изучение влияния различных источников углерода и энергии на продукцию активных форм кислорода и степень экспрессии антиоксидантных генов *sodA*, *katG* и *katE*, кодирующих Mn-супероксиддисмутазу и каталазы HPI и HPII, соответственно.

Материалы и методы исследования

Штаммы бактерий и условия культивирования. В качестве объекта исследований использовали штамм *E. coli* BW25113 $\Delta(araD-araB)567$, $\Delta lacZ4787(::rrnB-3)$, $\lambda-$, *rph-1*, $\Delta(rhaD-rhaB)568$, *hsdR514*, полученный из *E. coli* Genetic Stock Center (CGSC). Штамм NM3001, несущий слияние промотора гена *sodA* со структурным геном *lacZ*, кодирующим β -галактозидазу, был сконструирован путем трансдукции фагом PI слияния *sodA::lacZ* из *E. coli* QC772 (дар проф. D. Touati) в BW25113. Штамм NM3021, несущий транскрипционное генное слияние *katG::lacZ*, был получен путем трансформации клеток *E. coli* BW25113 плазмидой pKT1033 [Tao et al., 1989]. Штамм NM3031 со слиянием *katE::lacZ* был создан путем трансформации клеток *E. coli* BW25113 плазмидой pRS

KatE16 (дар проф. M. Volkert). Бактерии выращивали на минимальной среде M9 ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ – 15.13 г/л; KH_2PO_4 – 3 г/л; NH_4Cl – 1 г/л; $NaCl$ – 0.5 г/л; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0.246 г/л; $CaCl_2$ – 0.011 г/л) с добавлением 10 мМ источников углерода и энергии (глюкозы и натриевых солей сукцината, α -кетоглутарата, малата или ацетата). За ростом следили путем измерения оптической плотности при длине волны 600 нм (OD_{600}). Клетки из выращенной в аэробных условиях ночной культуры после центрифугирования переносили в 250 мл-вые колбы с 50 мл свежей среды (начальная $OD_{600}=0.1$) и культивировали на шейкере (150 об/мин) при 37°C.

Удельную скорость роста культуры (μ) рассчитывали по формуле

$$\mu = \frac{\ln OD_{600}(t_2) - \ln OD_{600}(t_1)}{t_2 - t_1},$$

где $OD_{600}(t_2)$ и $OD_{600}(t_1)$ – оптическая плотность культуры, измеренная при длине волны 600 нм, во времена t_2 и t_1 .

Уровень растворенного кислорода в среде непрерывно измеряли с использованием электрода Кларка InPro 6800 (Mettler Toledo) и блока регистрации и управления ферментера BioFlo 110 (New Brunswick Scientific Co., USA).

Измерение внеклеточного супероксидного радикала ($O_2^{\cdot-}$) осуществлялось по методу, предложенному Korshunov, Imlay [2006], который основан на способности супероксида восстанавливать цитохром *c*, добавленный в клеточную суспензию. С этой целью клетки из экспоненциальной фазы ресуспендировали в двух 50 мл-вых колбах, содержащих 10 мл ростовой среды с исследуемыми субстратами и 20 мкМ цитохрома *c*. В одну из колб добавляли супероксиддисмутазу (30 У/мл) и обе колбы инкубировали при 37°C в течение 2.5 ч., отбирая пробы с 30 мин.-ным интервалом. Пробы (1.5 мл) из обеих колб пропускали через мембранный фильтр и в каждом образце измеряли спектр поглощения между длинами волн 570 и 530 нм. Затем к каждому образцу добавляли 0.2 мМ феррицианида калия, чтобы окислить цитохром, и вновь измеряли спектр. Количество восстановленного цитохрома рассчитывали, используя индуцированное феррицианидом изменение поглощения при 550 нм. Концентрация экстраклеточного супероксида определялась в парных образцах по разнице концентраций восстановленного цитохрома *c* в колбах без супероксиддисмутазы и в ее присутствии.

Концентрацию перекиси водорода (H_2O_2) определяли флуоресцентным методом [Seaver, Imlay, 2001]. Метод основан на окислении реагента Amplex red в присутствии перекиси водорода и пе-

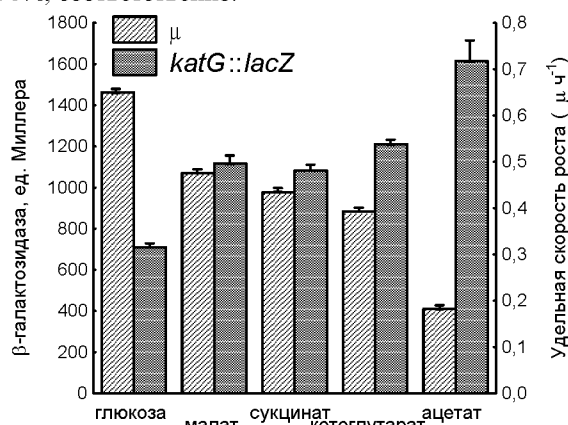
роксидазы до флуоресцирующего продукта резорфина (максимумы облучения и эмиссии – 563 и 587 нм). Исследуемые образцы (2 мл) пропускали через мембранный фильтр, и перекись водорода в фильтрате измеряли согласно методу [Seaver, Im-lay, 2001]. Флуоресценцию конвертировали в концентрацию H_2O_2 , используя калибровку со стандартными растворами перекиси водорода.

Активность β -галактозидазы определяли по методу Миллера [Miller, 1972] в штаммах *E. coli* NM3001, NM3021 и NM3031 несущих генные слияния *sodA::lacZ*, *katG::lacZ* и *katE::lacZ*, соответственно.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью пакета программ Microsoft Excel и Statistica 6.0, вычисляя среднее значение, стандартную ошибку и доверительный интервал. Каждый результат показан как среднее значение из не менее трех независимых экспериментов \pm стандартная ошибка среднего.

Результаты и их обсуждение

В наших экспериментальных условиях удельная скорость роста бактерий (μ) варьировала от $0.65 \pm 0.01 \text{ час}^{-1}$ до $0.18 \pm 0.01 \text{ час}^{-1}$ в зависимости от вида используемого источника углерода и энергии (рисунок). Максимальный уровень μ достигался на глюкозе, минимальный – на ацетате. При росте на малате, сукцинате и α -кетоглутарате скорость роста бактерий снижалась по отношению к значению этого параметра на глюкозе на 24, 32 и 38%, соответственно.



Изменение скорости роста и экспрессии гена *katG* при культивировании штамма *E. coli* NM3021 на разных источниках углерода и энергии

Урожай биомассы через 2.5 ч. при культивировании на глюкозе был почти в 2 раза выше, чем на сукцинате, малате и α -кетоглутарате, и более чем в 3 раза превышал уровень, достигаемый на ацетате (не показано).

В отличие от удельной скорости роста, экспрессия гена *katG* при культивировании на сукцинате, малате, α -кетоглутарате или ацетате повышалась, соответственно, в 1.5, 1.6, 1.7 и 2.3 раза по сравнению с уровнем экспрессии этого гена при культивировании на глюкозе (рисунок). Статистический анализ выявил наличие обратной зависимости экспрессии гена *katG* от скорости роста с $r = -0.99$ ($p < 0.05$). Ген *katG* кодирует каталазу HPI и находится под контролем транскрипционного регулятора OxyR, который индуцирует экспрессию большого числа генов в ответ на повышение концентрации перекиси водорода [Storz et al., 1990]. Кроме OxyR, ген *katG* регулируется транскрипционным фактором RpoS (σ^S), являющимся глобальным регулятором общего стрессового ответа и перехода в стационарную фазу роста [Ivanova et al., 1994]. Уровень RpoS в клетке контролируется на уровне транскрипции, трансляции и стабильности белка [Hengge-Arronis, 2002]. Было показано, что независимо от факторов, ограничивающих рост, экспрессия RpoS изменяется обратно пропорционально удельной скорости роста [Hssen, Egli, 2004]. В периодической культуре внутриклеточная концентрация RpoS возрастает при снижении скорости роста вследствие перехода из экспоненциальной в стационарную фазу. При росте на разных источниках углерода и энергии скорость роста бактерий в экспоненциальной фазе определяется энергетической эффективностью используемого источника. Следует ожидать, что снижение скорости роста *E. coli* при культивировании на малате, сукцинате, α -кетоглутарате и ацетате, относительно роста на глюкозе, сопровождается пропорциональным повышением уровня RpoS в клетках. Такое повышение RpoS должно приводить к возрастанию экспрессии гена *katG* RpoS-зависимым образом, что и наблюдалось в наших экспериментах.

Ген *katE*, кодирующий каталазу HPII, также находится под контролем RpoS. Мониторинг активности β -галактозидазы в штамме NM3031, несущем слияние *katE::lacZ*, показал, что экспрессия гена *katE* у бактерий, растущих на сукцинате, малате, α -кетоглутарате и ацетате, была выше, чем у растущих на глюкозе, в 1.8, 1.95, 1.5 и 2.1 раза, соответственно (не показано). Таким образом, как и в случае с *katG*, максимальный уровень экспрессии гена *katE* наблюдался при культивировании на ацетате, когда удельная скорость роста имела минимальное значение. Высокий уровень корреляции ($r = 0.83$; $p < 0.05$) между уровнями экспрессии генов *katG* и *katE* может свидетельствовать, что экспрессия обоих генов контролируется одним и тем же фактором.

Ген *sodA*, кодирующий Mn-супероксиддисмутазу, находится под контролем нескольких глобальных транскрипционных регуляторов, вклад

каждого из которых определяется условиями окружающей среды [Comran, Touati, 1993]. К числу этих регуляторов относятся ArcAB, Fnr, SoxRS, MarA, Fur и IHF. В анаэробных условиях ген *sodA* репрессируется регуляторными белками Fnr и ArcAB. Эта репрессия снимается при переходе к аэробным условиям. Дальнейшая активация экспрессии *sodA* в аэробных условиях происходит под действием окислительного стресса, вызванного добавлением редокс-циклических генераторов супероксида, и регулируется системой SoxRS. Измерение активности β -галактозидазы в штамме NM3001, несущем слияние *sodA::lacZ*, показало, что при росте на глюкозе, сукцинате и малате наблюдается снижение экспрессии гена *sodA* в течение культивирования (не показано). На ацетате экспрессия *sodA* оставалась относительно постоянной и превышала уровень, характерный для роста на глюкозе в 1.2–1.8 раза. Снижение экспрессии *sodA* в ходе периодики определяется, по-видимому, постепенным падением pO_2 в культуре по мере увеличения плотности биомассы и происходит под контролем регулятора ArcAB. Из-за низкой скорости роста и медленного потребления кислорода при культивировании бактерий на ацетате значение pO_2 в среде поддерживалось на высоком уровне в течение всей периодики, что, по-видимому, объясняет постоянный повышенный уровень экспрессии *sodA*.

Для того, чтобы определить, каким образом степень экспрессии антиоксидантных генов соотносится с уровнем активных форм кислорода, измеряли скорость продукции супероксидного радикала и концентрацию H_2O_2 в среде (таблица). Не наблюдалось достоверной разницы между скоростями продукции внеклеточного супероксида при росте *E. coli* на глюкозе, малате, сукцинате и α -кетоглутарате. Скорость продукции супероксида при культивировании на ацетате была в 1.55 раз ниже, чем на глюкозе.

Продукция внеклеточных АФК при росте *E. coli* BW25113 (wt) на различных источниках углерода и энергии

Источник углерода и энергии	Скорость продукции супероксида, $\mu\text{моль}/0.1\text{OD}_{600}\text{ мин}$	Концентрация H_2O_2 , $\mu\text{М}$
Глюкоза	4.59 ± 0.36	0.21 ± 0.01
Малат	4.40 ± 0.43	0.09 ± 0.01
Сукцинат	4.30 ± 0.34	0.22 ± 0.02
α -кетоглутарат	4.48 ± 0.46	0.08 ± 0.01
Ацетат	2.95 ± 0.44	0.10 ± 0.01

Следует отметить, что в наших экспериментах измерялся супероксид, который образуется переносчиками дыхательной цепи (главным образом, менахиноном) с наружной стороны цитоплазматической мембраны [Korshunov, Imlay, 2006]. По-

скольку в нормальных физиологических условиях анион супероксида не может пересекать цитоплазматическую мембрану, для защиты периплазмы от внеклеточного супероксида *E. coli* имеют специальную периплазматическую супероксиддисмутазу CuZnSOD, кодируемую геном *sodC*. Экспрессия гена *sodC* находится под контролем RpoS и активируется при переходе в стационарную фазу [Gott, Ferber, Imlay, 1999]. В связи с этим, наблюдаемое снижение продукции супероксида при росте *E. coli* на ацетате может быть следствием его повышенной деструкции с участием CuZnSOD в медленно растущей культуре с высоким уровнем RpoS.

Поскольку H_2O_2 легко проникает через цитоплазматическую мембрану, ее концентрация в среде является результатом динамического равновесия между продукцией и деструкцией с участием цитоплазматических каталаз и алкилгидропероксидредуктазы. В течение всего периода наблюдений концентрация H_2O_2 в культуре *E. coli* поддерживалась вблизи постоянного уровня, который был характерен для данного источника углерода и энергии (таблица). Максимальные уровни перекиси водорода накапливались в культурах, растущих на глюкозе и сукцинате. Бактерии, растущие на малате, α -кетоглутарате и ацетате, поддерживали в 2.33, 2.63 и 2.1 раза более низкую концентрацию H_2O_2 в среде, чем при росте на глюкозе. В целом наблюдалась тенденция к снижению уровня H_2O_2 с повышением экспрессии гена *katG*, кодирующего каталазу HPI, в более медленно растущих культурах ($r = -0.65$). Исключение составлял сукцинат, который, по-видимому, способствует увеличению скорости продукции АФК. В частности, показано, что сукцинатдегидрогеназа может быть одним из источников АФК в клетках *E. coli* [Imlay, Fridovich, 1991].

Заключение

Результаты наших исследований показали, что при выращивании *E. coli* на разных источниках углерода и энергии, степень экспрессии генов *katG* и *katE*, кодирующих каталазы HPI и HPII, находится в обратной зависимости от удельной скорости роста соответствующих культур. Это связано с тем, что удельная скорость роста определяет концентрацию белка RpoS, который контролирует экспрессию обоих генов, индуцируя ее при замедлении роста. Степень экспрессии гена *sodA*, кодирующего MnSOD, в наших экспериментальных условиях контролируется регуляторной системой ArcAB и зависит в основном от содержания кислорода в среде. Поскольку в медленно растущих культурах поддерживается более высокая концентрация кислорода, они демонстрируют повышенный уровень экспрессии гена *sodA*. Снижение скорости продукции внеклеточного супероксида при росте бактерий на ацетате также может быть связано со значительным замедлением роста, поскольку под

контролем RpoS индуцируется периплазматическая CuZnSOD, осуществляющая дисмутацию внеклеточного супероксида. И, наконец, концентрация H₂O₂ в среде определяется, прежде всего, активностью каталаз, которая повышается в медленно растущих культурах. Таким образом, различная энергетическая эффективность источников углерода и энергии приводит к изменению скорости роста бактериальных культур и влияет на степень экспрессии антиоксидантных генов и уровень активных форм кислорода. Это может способствовать повышению устойчивости культур, растущих на субстратах с меньшей энергетической эффективностью к различным стрессам, сопровождающимся усилением продукции АФК.

Работа поддержана грантами РФФИ №16-04-00762 и №14-04-96031и грантом по программе Уральского отделения Российской академии наук № 15-4-4-16.

Библиографический список

- Anjem A., Imlay J.A. Mononuclear iron enzymes are primary targets of hydrogen peroxide stress // *J. Biol. Chem.* 2012. Vol. 287. P. 15544–15556.
- Compan I., Touati D. Interaction of six global transcriptional regulators in expression of manganese superoxide dismutase in *Escherichia coli* K12 // *J. Bacteriol.* 1993. Vol. 175. P. 1687–1696.
- Gonzalez-Flecha B., Demple B. Metabolic sources of hydrogen peroxide in aerobically growing *Escherichia coli* // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270. P. 13681–13687.
- Gort A.S., Ferber D.M., Imlay J.A. The regulation and role of the periplasmic copper, zinc superoxide dismutase of *Escherichia coli* // *Mol. Microbiol.* 1999. Vol. 32. P. 179–191.
- Gu M., Imlay J.A. Superoxide poisons mononuclear iron enzymes by causing mismetallation // *Mol. Microbiol.* 2013. Vol. 89. P. 123–134.
- Hengge-Arronis R. Signal transduction and regulatory mechanisms involved in control of the σ^S (RpoS) subunit of RNA polymerase // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2002. Vol. 66. P. 373–395.
- Ihssen J., Egli T. Specific growth rate and not cell density controls the general stress response in *Escherichia coli* // *Microbiology.* 2004. Vol. 150. P. 1637–1648.
- Imlay J.A. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide // *Annu. Rev. Biochem.* 2008. Vol. 77. P. 755–776.
- Imlay J.A., Fridovich I. Assay of metabolic superoxide production in *Escherichia coli* // *J. Biol. Chem.* 1991. Vol. 266. P. 6957–6965.
- Ivanava A. et al. Role of *rpoS* (*katF*) in *oxyR*-independent regulation of hydroperoxidase I in *Escherichia coli* // *Mol. Microbiol.* 1994. Vol. 12. P. 571–578.
- Korshunov S., Imlay J.A. Detection and quantification of superoxide formed within the periplasm of *Escherichia coli* // *J. Bacteriol.* 2006. Vol. 188. P. 6326–6334.
- Messner K.R., Imlay J.A. The identification of primary sites of superoxide and hydrogen peroxide formation in the aerobic respiratory chain and sulfite reductase complex of *Escherichia coli* // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. P. 10119–10128.
- Miller J.H. Experiments in molecular genetics. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1972.
- Seaver L.C., Imlay J.A. Alkyl hydroperoxide reductase is the primary scavenger of endogenous hydrogen peroxide in *Escherichia coli* // *J. Bacteriol.* 2001. Vol. 183. P. 7173–7181.
- Skulachev V. Uncoupling: new approaches to an old problem of bioenergetics // *Biochim. Biophys. Acta.* 1998. Vol. 1363. P. 100–124.
- Storz G., Taraglia L.A., Ames B.N. Transcriptional regulator of oxidative stress-inducible genes: direct activation by oxidation // *Science.* 1990. Vol. 248. P. 194–198.
- Tao K. et al. Molecular cloning and nucleotide sequencing of *oxyR*, the positive regulatory gene of a regulon for an adaptive response to oxidative stress in *Escherichia coli*: homologies between OxyR protein and a family of bacterial activator proteins // *Mol. Gen. Genet.* 1989. Vol. 218. P. 371–376.

References

- Anjem A., Imlay J.A. Mononuclear iron enzymes are primary targets of hydrogen peroxide stress. *J. Biol. Chem.* V. 287 (2012): pp. 15544-15556.
- Compan I., Touati D. Interaction of six global transcriptional regulators in expression of manganese superoxide dismutase in *Escherichia coli* K12. *J. Bacteriol.* V. 175 (1993): pp. 1687-1696.
- Gonzalez-Flecha B., Demple B. Metabolic sources of hydrogen peroxide in aerobically growing *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* V. 270 (1995): pp. 13681-13687.
- Gort A.S., Ferber D.M., Imlay J.A. The regulation and role of the periplasmic copper, zinc superoxide dismutase of *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* V. (32): (1999): pp. 179-191.
- Gu M., Imlay J.A. Superoxide poisons mononuclear iron enzymes by causing mismetallation. *Mol. Microbiol.* V. 89 (2013): pp. 123-134.
- Hengge-Arronis R. Signal transduction and regulatory mechanisms involved in control of the σ^S (RpoS) subunit of RNA polymerase. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* V. 66 (2002): pp. 373-395.
- Ihssen J., Egli T. Specific growth rate and not cell density controls the general stress response in *Escherichia coli*. *Microbiology* V. 150 (2004): pp. 1637-1648.
- Imlay J.A. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. *Annu. Rev. Biochem.* V. 77 (2008): pp. 755-776.
- Imlay J.A., Fridovich I. Assay of metabolic superoxide production in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* V. 266 (1991): pp. 6957-6965.
- Ivanava A., Miller C., Glinsky G., Eisenstark A. Role of *rpoS* (*katF*) in *oxyR*-independent regulation of

- hydroperoxidase I in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* V. 12 (1994): pp. 571-578.
- Korshunov S., Imlay J.A. Detection and quantification of superoxide formed within the periplasm of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* V. 188 (2006): pp. 6326-6334.
- Messner K.R., Imlay J.A. The identification of primary sites of superoxide and hydrogen peroxide formation in the aerobic respiratory chain and sulfite reductase complex of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* V. 274 (1999): pp. 10119-10128.
- Miller J.H. Experiments in molecular genetics. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1972.
- Seaver L.C., Imlay J.A. Alkyl hydroperoxide reductase is the primary scavenger of endogenous hydrogen peroxide in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* V. 183 (2001): pp. 7173-7181.
- Skulachev V. Uncoupling: new approaches to an old problem of bioenergetics. *Biochim. Biophys. Acta* V. 1363 (1998): pp. 100-124.
- Storz G., Taraglia L.A., Ames B.N. Transcriptional regulator of oxidative stress-inducible genes: direct activation by oxidation. *Science* V. 248 (1990): pp. 198-194.
- Tao K., Makino K., Yonei S., Nacata A., Shinagawa H. Molecular cloning and nucleotide sequencing of *oxyR*, the positive regulatory gene of a regulon for an adaptive response to oxidative stress in *Escherichia coli*: homologies between OxyR protein and a family of bacterial activator proteins. *Mol. Gen. Genet.* V. 218 (1989): pp. 371-376.

Поступила в редакцию 27.09.2016

Об авторах

Петерс Михаил Александрович, аспирант
ФГБУН Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН
614081, Пермь, ул. Голева, 13; mixeu-mhz@mail.ru

Музыка Надежда Геннадьевна, кандидат
биологических наук, старший научный сотрудник
лаборатории физиологии и генетики
микроорганизмов
ФГБУН Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН
614081, Пермь, ул. Голева, 13; muzyka@iegm.ru

Тюленев Алексей Валерьевич, кандидат
биологических наук, старший инженер лаборатории
физиологии и генетики микроорганизмов
ФГБУН Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН
614081, Пермь, ул. Голева, 13; leksey@yandex.ru

Октябрьский Олег Николаевич, доктор
биологических наук, профессор, зав. лабораторией
физиологии и генетики микроорганизмов
ФГБУН «Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН»
614081, Пермь, ул. Голева, 13; oktyabr@iegm.ru
профессор кафедры химии и биотехнологии
ФГБОУ ВПО «Пермский национальный исследо-
вательский политехнический университет»
614990, Пермь, Комсомольский пр., 29

Смирнова Галина Васильевна, доктор
биологических наук, ведущий научный сотрудник
лаборатории физиологии и генетики
микроорганизмов
ФГБУН «Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН»
614081, Пермь, ул. Голева, 13;
smirnova@iegm.ru; (342)2122086

About the authors

Peters Mikhail Alexandrovich, graduate student
Institute of Ecology and Genetics of
Microorganism UB RAS. 13, Golev str., Perm,
Russia, 614081; mixeu-mhz@mail.ru

Muzyka Nadezhda Gennad'evna, candidate of
biology, senior researcher of laboratory of
physiology and genetics of microorganisms
Institute of Ecology and Genetics of
Microorganism UB RAS. 13, Golev str., Perm,
Russia, 614081; muzyka@iegm.ru

Tyulenev Alexey Valerievich, candidate of biology,
engineer of laboratory of physiology and genetics
of microorganisms
Institute of Ecology and Genetics of
Microorganism UB RAS. 13, Golev str., Perm,
Russia, 614081; leksey@yandex.ru

Oktyabrsky Oleg Nikolaevich, doctor of biology,
professor, director of laboratory of physiology and
genetics of microorganisms
Institute of Ecology and Genetics of
Microorganism UB RAS. 13, Golev str., Perm,
Russia, 614081; oktyabr@iegm.ru
professor of the Department of Chemistry and
Biotechnology
Perm National Research Polytechnic University.
Komsomolsky pr., 29, Perm, Russia, 614990

Smirnova Galina Vasil'evna, doctor of biology,
leading researcher of laboratory of physiology and
genetics of microorganisms
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism
UB RAS. 13, Golev str., Perm, Russia, 614081;
smirnova@iegm.ru; (342)2122086